

# RAPORT STIINTIFIC SI TEHNIC

## Etapa 4 – 2017

### **Demonstrarea modelului functional in vederea valorificarii sustenabile a diversitatii biologice la specia *Arnica montana* L. din nordul Carpatilor Orientali – strategii de perspectiva, integrarea studiilor interdisciplinare si corelarea rezultatelor finale.**

#### **REZUMATUL ETAPEI**

Activitatile derulate in aceasta etapa vizeaza studii interdisciplinare privind caracterizarea cadrului natural al siturilor cu *Arnica montana* L. din zona tinta, evaluarea abundentei si a bioproductivitatii in termeni de biomasa si a biosintezei de compusi fitochimici biologic activi (pe clase de compusi), optimizarea culturilor experimentale, corelarea indicatorilor de bioproductivitate cu efectul individual si cumulat al factorilor de mediu, realizarea hartilor de vulnerabilitate si modelarea distributiei arealelor speciei *A. montana*, determinarea cantitativa a unor metaboliti prin RMN, stabilirea unei tehnologii de extractie la faza de pilot, caracterizarea extractelor obtinute si standardizarea acestora.

In vederea caracterizarii cadrului natural s-a realizat colectarea pe teren a variabilelor de mediu (altitudine si coordonate geografice, date referitoare la expozitie si panta, parametri pedochimici, intensitatea presiunii antropogene, insusirile fitocenozei) pentru habitatele naturale luate in studiu in care creste specia *A. montana* din zona tinta.

Evaluarea abundentei speciei *Arnica montana* aferenta anului 4 de studiu a fost realizata pentru cinci populatii din zona nordica a Carpatilor Orientali. De asemenea, a fost realizata o analiza a factorilor de mediu cu influenta asupra speciei *A. montana*. Parametrii determinati in vederea evaluarii bioproductivitatii (biomasa) au fost: rata de inflorire, masa uscata calculata pentru 25 indivizi - diferentiata pe tip de organ vegetal (inflorescente, frunze, tulpini, rizomi si radacini), masa uscata determinata calculata pentru 100 inflorescente (diferite etape de dezvoltare).

In vederea optimizarii metodelor de cultivare, in anul al doilea de cultura a speciei *A. montana* a fost urmarita in principal dezvoltarea plantei, tehnologia de cultura incluzand diverse lucrari de intretinere, care s-au realizat atat inainte cat si in timpul perioadei de vegetatie. Pentru corelarea indicatorilor de bioproductivitate cu efectul individual si cumulat al factorilor de mediu au fost realizate evaluari ale biomasei indivizilor de *A. montana* pentru 10 populatii reprezentative pentru tipurile de habitate in care se dezvolta specia, dar si pentru modul de utilizare al terenului.

Hartile de vulnerabilitate a terenurilor au fost obtinute pentru 9 microbazine cu situri selectate din jumatatea central-nordica a Carpatilor Orientali. Acestea au condus la obtinerea indicelui de vulnerabilitate in fiecare habitat cu *A. montana* selectat.

In vederea caracterizarii probele colectate din siturile investigate pentru evaluarea diversitatii fitochimice au fost realizate determinari diferite pe tipuri de organ vegetal (inflorescente, frunze, tulpini, radacini si rizomi), si au fost vizate mai multe clase de compusi biologic activi – lactone sescviterpenice (HPLC-MS), compusi polifenolici (CSS si HPLC-DAD) si ulei volatil (GC-MS). Analiza fitochimica a continutului de compusi bioactivi a avut ca scop evaluarea potentialului bioproductiv si a variabilitatii fitochimice.

A fost dezvoltat un protocol RMN pentru identificarea si calcularea continutului total de lactone sesquiterpenice din spectrele 1H RMN corespunzatoare extractelor organice din inflorescenta. Au fost analizate 32 de probe de inflorescenta prima si medie, recoltate in doi ani consecutivi, 2014 si 2015, pastrate in conditii identice. Continutul total de lactone sesquiterpenice determinat din spectrele 1H RMN cantitative s-a situat intre 6.44 si 12.06, valori mai mari fiind pentru probele recoltate in 2015. Au fost analizati prin spectroscopie RMN 14 derivati noi, heterocicli cu azot. Structurile chimice corespunzatoare derivatiilor noi au fost determinate din spectrele RMN uni si bidimensionale. Acest tip de compusi sunt de interes pentru proiect deoarece au motive structurale similare cu cele din alcaloizi naturali, existenti in specia *Arnica montana*.

S-a obtinut extractul standardizat din arnica si s-a realizat demonstrarea reproductibilitatii tehnologiei de obtinere a extractelor standardizate. Aplicarea protocolului analitic de caracterizare a extractelor standardizate a condus la obtinerea de date analitice si elaborarea referentialelor de calitate pentru materii prime vegetale (Fise Tehnice), materii prime intermediare – extracte concentrate de arnica-frunze si radacina (Fise Tehnice) si produse finite – extracte standardizate de arnica (Specificatii Tehnice).

Rezultatele etapei 4 au fost diseminate prin participarea la 4 conferinte internationale (5 postere +1 comunicare orala), prin publicarea 1 articol BDI. De asemea, 1 articol ISI a fost acceptat spre publicare, iar un articol ISI este in evaluare.